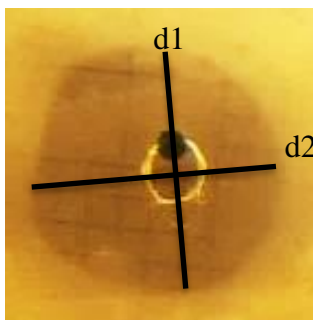


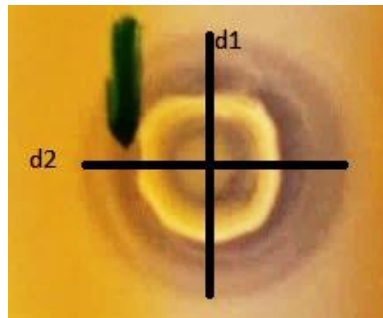
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

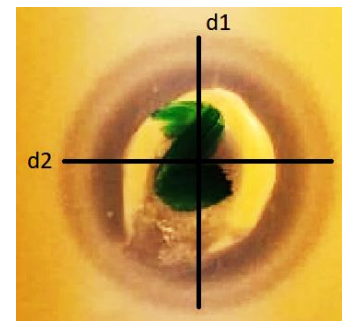
Daya hambat jus Belimbing Wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang digunakan adalah 40%; 50%; 60% dan 70% serta kontrol iodip, menghasilkan zona bening. Zona bening yang terbentuk setelah melewati masa inkubasi selama 24 jam pada 37°C dapat dilihat pada Gambar 9. Seluruh Data hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi 40%; 50%; 60% dan 70% serta kontrol iodip di setiap ulangan yang diujikan dapat di lihat pada Tabel 4.



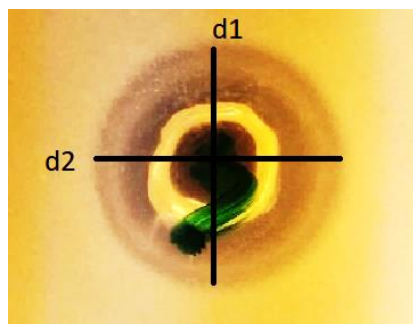
Gambar a



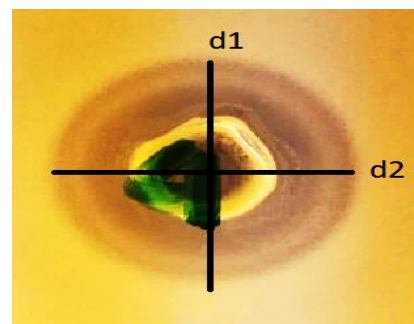
Gambar b



Gambar c



Gambar d



Gambar e

Gambar 9. Hasil diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan Gambar :

d1 = diameter zona hambat 1

d2 = diameter zona hambat 2

Gambar a) P₀ = Perlakuan kontrol dengan larutan iodip

Gambar b) P₁ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 40%

Gambar c) P₂ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 50%

Gambar d) P₃ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 60%

Gambar e) P₄ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 70%

Tabel 4. Hasil diameter zona bening pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Ulangan (mm)				Rata- rata (SD)
	1	2	3	4	
P0 (iodip)	22,150	23,100	16,450	19,200	20,225 ± 3,015
P1 (40%)	5,200	5,450	5,750	5,200	5,400 ± 0,261
P2 (50%)	6,800	6,050	9,150	6,350	7,088 ± 1,409
P3 (60%)	6,550	6,750	7,450	7,200	6,988 ± 0,411
P4 (70%)	8,300	8,150	9,300	8,200	8,488 ± 0,545

4.2. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian daya hambat dengan menggunakan jus Belimbing Wuluh dilakukan untuk melihat zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi jus Belimbing Wuluh yang digunakan 40%; 50%; 60%; 70% dan larutan iodip sebagai pembanding penghambat pertumbuhan bakteri secara kimiawi. Didapatkan rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat pada Tabel 5 berikut :

Tabel 5. Rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori antimikroba
1	P0 (iodip)	20,225 ^b ± 3,015	Sangat kuat
2	P1 (40%)	5,400 ^a ± 0,261	Sedang
3	P2 (50%)	7,088 ^a ± 1,409	Sedang
4	P3 (60%)	6,988 ^a ± 0,411	Sedang
5	P4 (70%)	8,488 ^a ± 0,545	Sedang

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda a dan b menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$)

Tabel 5. menunjukkan bahwa pengujian daya hambat jus Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan metode sumuran terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat bervariasi di tiap perlakuan. Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian jus Belimbing Wuluh memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambat terjadi karena adanya kandungan antibakteri pada Belimbing Wuluh berupa flavonoid, tanin, saponin dan Asam alifatik.

Setelah dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan uji Jarak Nyata Duncan (JND) dihasilkan adanya perbedaan superskrip seperti yang dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian jus Belimbing Wuluh dengan menggunakan Jus Belimbing Wuluh pada P4 (70%) menghasilkan diameter zona hambat yang paling besar yaitu 8,48 mm yang termasuk pada kategori sedang, begitu pula pada perlakuan P1 (40%); P2 (50%) dan P3 (60%) yaitu 5,4mm; 7,08

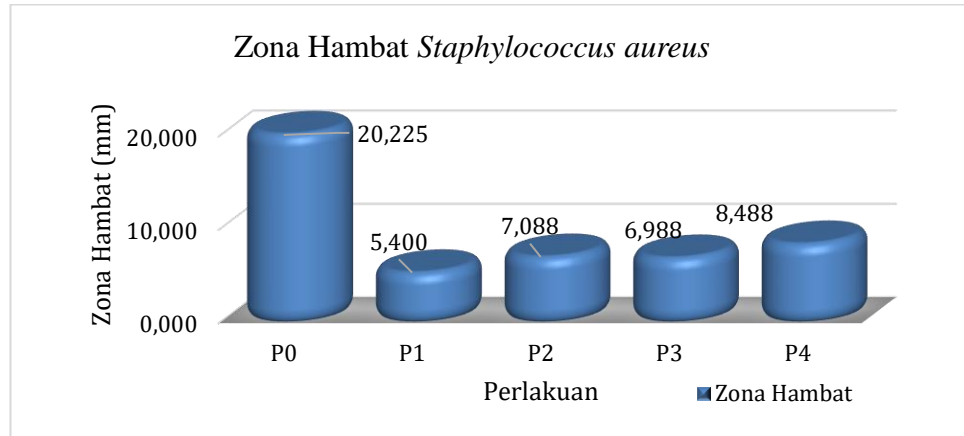
mm dan 6,98 mm. Hasil uji JND membuktikan bahwa diameter zona bening yang terbentuk oleh P4 tidak berbeda dengan P1, P2 dan P3. Perlakuan P4 merupakan perlakuan dengan hasil zona bening tertinggi namun, Belum dapat mengimbangi P0. Perlakuan kontrol yaitu P0 (iodip) menghasilkan zona hambat 20,22 mm yang dikategorikan sangat kuat. Rita (2010) diameter zona hambat jika lebih besar 20 mm dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, kemudian untuk zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang sedangkan untuk diameter zona hambat lebih kecil atau sama dengan 5 mm dikategorikan lemah.

Menurut hasil skrining fitokimia Hasanuzzaman, Ramjan, Marjan, dan Islam (2013) kandungan kimia yang terdapat pada buah Belimbing Wuluh yaitu alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, glikosit, triterpen, fenol dan karbohidrat. Hasil penapisan fitokimia jus Belimbing Wuluh oleh, Surialaga dkk (2013) Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), mengandung flavonoid, saponin, tanin, asam alifatik, asam Heksadekanoat dan asam Oktadekanoat. Hasil identifikasi Pino, Marbot dan Bello (2004) 47,8% total senyawa asam volatil yang terdapat dalam buah Belimbing Wuluh merupakan asam alifatik. Kandungan flavonoid, saponin, tanin dan asam alifatik yang terdapat pada Belimbing Wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat, kebanyakan galur ini adalah koagulase positif, bila menggerombol dalam susunan yang tidak teratur sisinya agak rata karena tertekan, diameter antara 0,8-1,0 mikron. Bakteri ini tidak bergerak dan tidak berspora. Bakteri Gram Positif ini tertata seperti anggur, nonmotil, aerobik, anaerobik fakultatif, menghasilkan koagulase. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada selaput hidung, kulit, kantung rambut. Selain itu *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan keracunan makanan, infeksi kulit ringan sampai berat (Rostinawati, 2009). *Staphylococcus aureus* yang berasal dari nanah dapat terlihat tunggal, berpasangan, bergerombol dan dapat tersusun seperti rantai pendek. Susunan gerombolan biasanya ditemukan pada media padat. Suhu optimum bakteri ini hidup 37°C dan batas suhu untuk dapat hidup 15°C dan 40°C sedangkan kondisi pertumbuhan terbaik pada kondisi aerob, dan sifat dari bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk ialah 7,4 (Syahrurachman dkk., 1994).

Hasil analisis statistik (Lampiran 7.) diketahui bahwa terdapat daya hambat sangat nyata ($P < 0,01$) setelah dilakukan analisis menggunakan analisis ragam. Namun dari seluruh konsentrasi yang diterapkan, belum ada yang mampu mengimbangi kekuatan daya hambat menggunakan iodip. Rahmiati, Darmawati dan Mukaromah, (2017) menjelaskan hasil penelitian dengan menggunakan ekstrak Etanol Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan 6 perlakuan yaitu konsentrasi 10%; 20%; 30%; 40% dan kontrol positif menggunakan *Ciprofloxacin* dan kontrol negatif menggunakan larutan *aquadest* adalah 30% ekstrak etanol buah Belimbing Wuluh sudah dapat mengimbangi daya hambat kontrol positif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambat yaitu sensitivitas organisme, pH, jenis mikroba, bahan antimikroba yang digunakan, medium kultur, kondisi inkubasi, dan kecepatan difusi agar. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar, yaitu konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi (Siregar, Sabdono dan Pringgenies, 2012). Perbandingan hasil rata-rata diameter zona hambat yang di dapat dari perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 disajikan pada Gambar 10



Gambar 10. Zona hambat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Gambar 10. Menunjukkan bahwa semakin tinggi penggunaan konsentrasi Belimbing Wuluh maka akan semakin tinggi juga zona hambat yang dihasilkan. Hasil ini dipengaruhi adanya perbedaan tingkat konsentrasi setiap perlakuan. Secara umum rata-rata diameter zona hambatan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Menurut Ariyanti, Darmayasa dan Sudirga, (2012) tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri, maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat. Tingkat konsentrasi yang berbeda dengan perlakuan yang sama akan mempengaruhi jumlah zat yang terlarut. Belimbing Wuluh dihaluskan dengan memblender akan mencampurkan dan mengeluarkan zat aktif yang terdapat didalam Belimbing Wuluh yang dapat dimanfaatkan sebagai zat antibakteri. Menurut hasil pengamatan Rahmiati, Darmawati dan Mukaromah (2017) Etanol merupakan larutan yang bersifat semi polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Pelarut semi polar dapat menginduksi tingkat kepolaran molekul-molekul pelarut non polar. Etanol bertindak sebagai perantara (*Intermediete solvent*) untuk mencampurkan pelarut non polar dengan non polar. Larutan etanol sangat bagus digunakan sebagai pelarut buah Belimbing Wuluh, karena sangat baik untuk menarik senyawa zat aktif yang terkandung di dalamnya seperti flavonoid, saponin, tanin yang bersifat polar dan alkaloid yang bersifat non polar.

Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh Belimbing Wuluh berasal dari unsur-unsur yang terkandung. Kandungan tersebut berupa flavonoid, tanin, saponin, dan asam organik seperti asam alifatik, asam Heksadekanoat dan asam Oktadekanoat (Surialaga dkk., 2013). Asam organik pada Belimbing Wuluh yang dapat bersifat

antibakteri. Asam organik yang terdapat pada Belimbing Wuluh di dominasi oleh asam Alifatik. Asam alifatik merupakan asam lemak jenuh dan tak jenuh tinggi terdapat dalam kayu terutama dalam bentuk esternya dengan gliserol yang terdiri dari lemak dan minyak atau dengan alkohol tinggi (Nofriadi, 2009). Johannes, Hanapi dan Mariyati (2015) Asam heksadekanoat dengan konsentrasi 10,20 dan 30 (ppm) bersifat bakterisidal terhadap bakteri *S. typhi* dan juga bersifat bakterisidal terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 30 ppm. Rahman, Ahmad, Mohamed dan Rahman (2014) dalam Anugrahwati, Wicaksono, dan Nurlestari, (2017) asam Z-9-oktadekonoat bersifat antibiotik. Hasil penelitian Irhami (2012) Belimbing Wuluh yang memiliki pH terendah yaitu Belimbing Wuluh yang belum matang dan memiliki kandungan air yang paling rendah. Kandungan yang terdapat di dalam Belimbing Wuluh inilah yang mengakibatkan pertumbuhan pada bakteri *Staphylococcus aureus* terhambat. Pertumbuhan yang terhambat ini membentuk zona bening yang mengidentifikasikan bahwa pertumbuhan bakteri mulai terganggu. Namun untuk beberapa bakteri yang tahan terhadap asam yaitu bakteri Asidofilik, mampu bertahan dari gangguan asam yaitu pH 2 . Umumnya bakteri patogen tumbuh pada kondisi pH 6-8.

Flavonoid, merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Flavonoid adalah salah satu senyawa antioksidan golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan, sehingga dapat dipastikan terdapat flavonoid pada setiap telah ekstrak tumbuhan (Azizah, Kumolowati dan Faramayuda, 2014). Di Carlo *et al.*, (1999) dalam Sabir (2005) gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri Fenol memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak dinding sel bakteri (Kurniawan dan Aryana, 2015). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, sehingga menurunkan tegangan permukaan dan mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013).

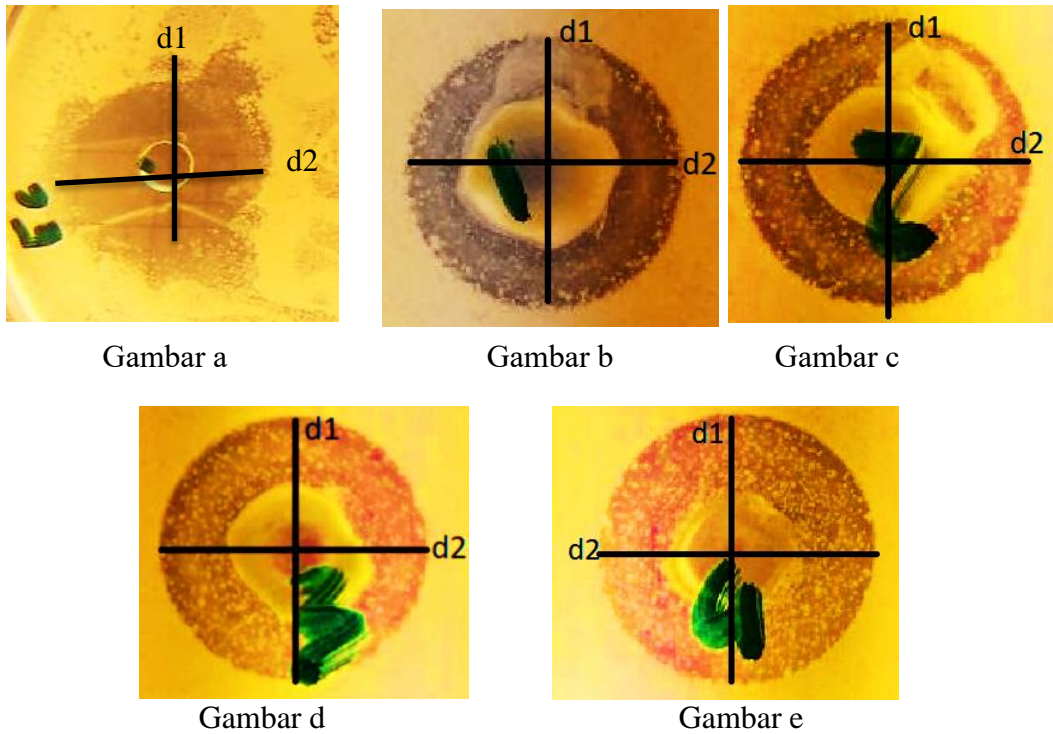
Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Khanbabaee dan Van Ree, 2001). Menurut Wijaya (2014)

Efek antibiotik tanin antara lain melalui adanya reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mengganggu pembentukan polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013).

Saponin, merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran, sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan sel kuman, kuman tersebut akan pecah atau lisis (Poeloengan dan Praptiwi, 2010). Saponin adalah metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam. Saponin ini berasa pahit, berbusa dalam air dan bersifat antibiotik. Dalam menekan pertumbuhan bakteri, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis (Pratiwi, 2008). Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibiotik akan datang dengan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri. Selain itu Saponin merupakan komponen kimia yang berperan aktif dalam mengobati penyakit diabetes, karena mempunyai kemampuan menghambat penyerapan glukosa sehingga dapat mencegah naiknya glukosa dalam darah, serta dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah (Mustikasari dan Ariyani, 2016). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan, sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013)

4.3. Zona Hambat Bakteri *Escherchia coli*

Daya hambat bakteri *Escherchia coli* yaitu jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi yang digunakan adalah 40%; 50%; 60% dan 70% serta kontrol iodip, menghasilkan zona bening di sekitar lubang sumuran. Zona bening yang terbentuk setelah melewati masa inkubasi selama 24 jam pada 37°C dapat dilihat pada Gambar 11. Seluruh Data hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi 40%; 50%; 60% dan 70% serta kontrol iodip di setiap ulangan yang diujikan dapat dilihat pada Tabel 6



Gambar 11. Hasil diameter zona hambat bakteri *Escherchia coli*

Keterangan Gambar :

d1 = diameter zona hambat 1

d2 = diameter zona hambat 2

Gambar a) P₀ = Perlakuan kontrol dengan larutan iodip

Gambar b) P₁ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 40%

Gambar c) P₂ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 50%

Gambar d) P₃ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 60%

Gambar e) P₄ = Perlakuan jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 70%

Tabel 6. Hasil diameter zona bening pada bakteri *Escherchia coli*

Perlakuan	Ulangan (mm)				Rata- rata (SD)
	1	2	3	4	
P0 (iodip)	24,550	25,750	24,150	24,000	24,613 ± 0,793
P1 (40%)	6,150	6,400	6,900	7,200	6,663 ± 0,475
P2 (50%)	7,000	7,400	7,650	8,250	7,575 ± 0,524
P3 (60%)	7,200	8,250	8,000	9,000	8,113 ± 0,742
P4 (70%)	9,350	9,800	10,500	11,000	10,163 ± 0,732

Bakteri *Escherchia coli* yang digunakan sebagai media daya hambat jus Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dibiakkan dengan media MHA yang sama dengan proses pengembangan uji bakteri *Staphylococcus aureus*. Prosedur yang digunakan juga sama dengan metode pengujian dengan menggunakan metode

difusi sumuran. Lama inkubasi yang digunakan pada bakteri ini juga 24 jam dengan menggunakan suhu 37°C

4.4. Uji Daya Hambat Bakteri *Escherchia coli*

Hasil pengujian yang dilakukan menggunakan jus Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Escherchia coli* diperoleh menggunakan metode pengujian daya hambat difusi sumuran dan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Konsentrasi jus Belimbing Wuluh yang digunakan 40%; 50%; 60%; 70% dan larutan iodip sebagai pembanding penghambat bakteri secara kimiawi. Rata-rata dari hasil pengukuran bakteri *Escherchia coli* disajikan pada Tabel 7 sebagai berikut :

Tabel 7. Rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Escherchia coli*

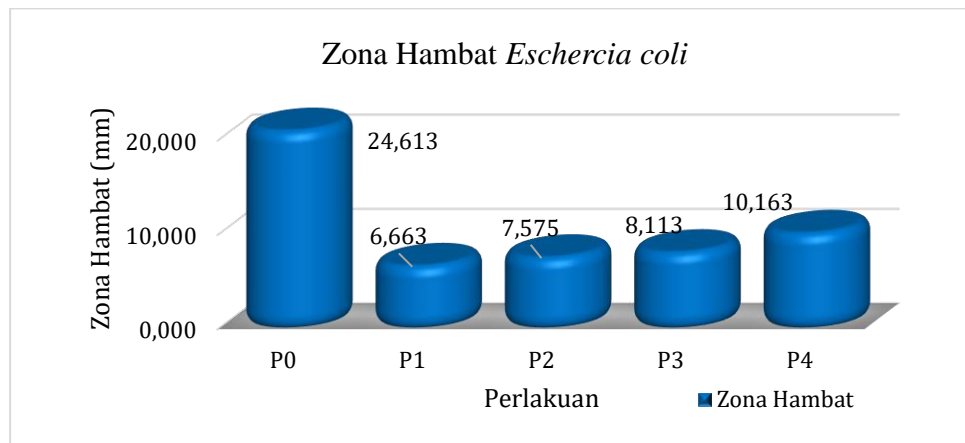
No.	Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori antimikroba
1	P0 (iodip)	24,613 ^c ± 0,793	Sangat kuat
2	P1 (40%)	6,662 ^a ± 0,475	Sedang
3	P2 (50%)	7,575 ^a ± 0,524	Sedang
4	P3 (60%)	8,112 ^a ± 0,742	Sedang
5	P4 (70%)	10,162 ^b ± 0,732	Kuat

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda a, b dan c menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$)

Tabel 7. Menunjukkan bahwa pengujian daya hambat jus Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Escherchia coli* menunjukkan hasil rata-rata diameter yang bervariasi diantar perlakuan dan konsentrasi yang berbeda. Hal ini dibuktikan dengan adanya perbedaan superskrip yang dihasilkan setelah dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan uji Jarak Nyata Duncan (JND). Hasil tersebut membuktikan bahwa pemberian jus Belimbing Wuluh memberikan daya hambat perkembangan bakteri *Escherchia coli*, sehingga dengan demikian jus Belimbing Wuluh dapat digunakan sebagai antibakteri.

Diameter zona bening yang merupakan hasil daya hambat dari perlakuan jus Belimbing Wuluh. Perlakuan P1(40%) sebesar 6,6 mm P2(50%) sebesar 7,5mm dan P3(60%) dihasilkan 8,11 mm. Perlakuan P1, P2 dan P3 termasuk kategori antimikroba sedang. Diameter zona bening yang paling besar yaitu perlakuan jus Belimbing Wuluh P4(70%) sebesar 10,16 mm yang termasuk kategori antimikroba kuat. Pengujian JND memberikan hasil yaitu P4 merupakan Perlakuan dengan daya Hambat Tertinggi dari seluruh Perlakuan Konsentrasi Jus Belimbing Wuluh. Diameter zona bening yang dihasilkan P4 merupakan paling besar dari seluruh perlakuan dengan Belimbing Wuluh, namun belum mampu menyamai diameter zona hambat yang dihasilkan P0 (iodip) yaitu sebesar 24,61 mm yang termasuk kategori antibakteri sangat kuat. Rita (2010) diameter zona hambat jika lebih besar 20 mm dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, kemudian untuk zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang sedangkan untuk diameter zona hambat lebih kecil atau sama dengan 5 mm dikategorikan lemah.

Hasil analisis ragam (Lampiran 8) didapati bahwa jus Belimbing Wuluh mempunyai daya hambat yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap bakteri *Escherchia coli*, Konsentrasi pemberian jus Belimbing Wuluh yang berbeda dapat membentuk diameter zona hambat. Jus Belimbing Wuluh dengan konsentrasi 40%; 50%; 60% dan 70% belum dapat menggantikan iodip sebagai antimikroba untuk mastitis, dikarenakan diameter zona hambat yang terbentuk dengan perlakuan iodip masih lebih besar bila dibandingkan dengan zona hambat yang dibentuk dengan perlakuan Jus Belimbing Wuluh. Perbandingan untuk hasil rata-rata diameter zona hambat yang didapatkan dari perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P0 disajikan pada grafik zona hambat Belimbing Wuluh terhadap bakteri *Escherchia coli* pada Gambar 12. berikut:



Gambar 12. Zona hambat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Escherchia coli*

Pada Gambar 12 dapat dilihat bahwa zona hambat jus Belimbing Wuluh terhadap bakteri *Escherchia coli* dapat dilihat bahwa semakin meningkat konsentrasi semakin meningkat pula zona hambat. Hasil ini dipengaruhi adanya perbedaan tingkat konsentrasi setiap perlakuan. Secara umum rata-rata diameter zona hambatan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Menurut Ariyanti, Darmayasa dan Sudirga, (2012) tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat. Tingkat konsentrasi yang berbeda dengan perlakuan yang sama akan mempengaruhi jumlah zat yang terlarut. Belimbing Wuluh dihaluskan dengan memblender akan mencampurkan dan mengeluarkan zat aktif yang terdapat di dalam Belimbing Wuluh yang dapat dimanfaatkan sebagai zat antibakteri.

Perbedaan zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambat yaitu sensitivitas organisme, pH, jenis mikroba, bahan antimikroba yang digunakan, medium kultur, kondisi inkubasi, dan kecepatan difusi agar. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar, yaitu konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi (Siregar, Sabdono dan Pringgencies, 2012). Faktor tersebutlah yang kemungkinan menyebabkan terjadinya perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan.

4.5. Perbandingan Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Penggunaan yang persentase 40%; 50%; 60% dan 70% bukanlah tanpa alasan, pada percobaan sebelumnya dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 10%; 20% dan 30% Belimbing Wuluh dan di ujikan pada kedua bakteri tersebut. Hasil dari percobaan tersebut diperoleh bahwa pada konsentrasi 10%; 20% dan 30% tidak memberi daya hambat. Hasil ini disimpulkan didasari tidak terbentuknya zona hambat pada sekeliling sumuran dan telah dicobakan dengan 5 ulangan. Berdasarkan percobaan tersebut dilakukan peningkatan konsentrasi 40%; 50%; 60% dan 70% dan diperoleh zona hambat seperti yang terdapat pada Gambar 10 dan Gambar 12. Pengujian dengan meningkatkan konsentrasi dilakukan dengan dua proses yaitu dijus dan didekok. Kedua proses ini memiliki hasil yang sama. Perlakuan di jus memberikan daya hambat sangat nyata begitu juga pada perlakuan dengan didekok. Namun perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan jus. Hal ini memiliki arti bahwa perlakuan dengan dekok dapat merusak zat aktif yang terkandung pada Belimbing Wuluh sehingga mengurangi daya hambat dekok Belimbing Wuluh.

Perlakuan jus Belimbing Wuluh menggunakan konsentrasi terendah sampai tertinggi mempunyai tujuan untuk menghambat bakteri penyebab mastitis yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Diameter zona bening yang diperoleh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* setelah diberi perlakuan yang sama dan iodip menghasilkan diameter yang tidak jauh berbeda. Diameter zona bening pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 20,22 mm dan *Eschericia coli* sebesar 24,613 mm. Sedangkan pada setiap perlakuan menggunakan jus Belimbing Wuluh pada *Staphylococcus aureus* dengan Perlakuan P1, P2, P3 dan P4 secara berurutan yaitu 5,4 mm; 7,08 mm; 6,90 mm dan 8,40 mm apabila dibandingkan pada *Eschericia coli* Perlakuan P1, P2, P3 dan P4 secara berurutan yaitu 6,60 mm; 7,57 mm; 8,10 mm dan 10,10 mm. Faktor yang mempengaruhi nilai yang berbeda ini sensitivitas organisme, pH, jenis mikroba, bahan antimikroba yang digunakan.

Kondisi optimum pH untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* memiliki nilai yang hampir sama. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan sel Gram positif yang akan optimum pada kondisi Suhu optimum bakteri ini hidup 37°C, anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dengan pH optimum untuk ialah 7,4 (Widiyarti, Hanafi dan Soewarso, 2010). sedangkan *Eschericia coli* merupakan sel Gram Negatif yang tumbuh baik pada temperatur antara 8-46°C dan temperatur optimum 37°C dan pH 4-9, optimum pada pH 7,2-7,6 (Melliawati, 2015). Berdasarkan hasil pengukuran pH menggunakan pHmeter dan kertas lakmus diketahui bahwa Jus Belimbing Wuluh memiliki pH 2 sehingga dapat menurunkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Bakteri Gram negatif tidak tahan asam (Suharni, Nastiti dan Soetarto, 2008).

Selain kondisi pH yang dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri, zat aktif yang terkandung seperti flavonoid, saponin dan tanin yang memiliki sifat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut. Kurang optimalnya pengeluaran zat fitokimia dari Belimbing Wuluh merupakan salah satu kemungkinan yang menyebabkan jus Belimbing Wuluh tidak dapat mengimbangi iodip. Hal ini dukung oleh Rahmiati, Darmawati dan Mukaromah, (2017) yang menyatakan dalam hasil penelitiannya menggunakan ekstrak etanol buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* secara *in vitro* menghasilkan rata-rata diameter 21,6 mm dengan konsentrasi 10% berat/volume ekstrak etanol buah Belimbing Wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran. Hal ini berbeda dengan hasil dengan konsentrasi tertinggi yang telah di terapkan dalam penelitian ini yaitu 70% berat/volume *aquadest* dan Belimbing Wuluh yaitu memiliki rata-rata diameter zona hambat 8,44 mm. Perlakuan dengan ekstrak etanol Belimbing Wuluh memiliki diameter zona bening yang lebih tinggi, meskipun menggunakan konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini di dukung oleh Rahmiati, Darmawati dan Mukaromah (2017) bahwa larutan etanol sangat baik digunakan sebagai pelarut buah Belimbing Wuluh, karena sangat bagus menarik senyawa zat aktif yang terkandung didalamnya seperti flavonoid, saponin, tanin yang bersifat polar dan alkaloid yang bersifat non polar.